

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ В ИССЛЕДОВАНИЯХ СТРУКТУРНЫХ И МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КАРДИОМИОЦИТОВ

Мячина Т.А.^{1,2}, Лукин О.Н.^{1,2}, Бутова К.А.^{1,2}, Хохлова А.Д.^{1,2}

¹⁾ Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

²⁾ Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии
наук, г. Екатеринбург, Россия

*E-mail: myachina.93@mail.ru

THE USE OF FLUORESCENT DYES IN THE STUDIES OF STRUCTURAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF CARDIOMYOCYTES

Myachina T.A.^{1,2}, Lookin O.N.^{1,2}, Butova K.A.^{1,2}, Khokhlova A.D.^{1,2}

¹⁾ Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

²⁾ Institute of Immunology and Physiology, Russian Academy of Sciences,
Yekaterinburg, Russia

Investigation of the structure and function of heart cells requires the use of different types of fluorescent probes. For this purpose, calcium sensitive and potentiometric dyes are used simultaneously in this study. This method allows one to register the dynamics of Ca^{2+} ions in a cell and improve the current algorithm for determining the mean sarcomere length of a cardiomyocyte.

Нарушения структуры и функции клеток сердца являются причиной заболеваний сердечно-сосудистой системы. В данном исследовании для комплексного анализа структуры кардиомиоцита и его механической функции были одновременно использованы ион- и потенциал-чувствительные флуоресцентные красители.

Потенциал-чувствительные красители фиксируются на поверхности клеточной мембраны и применяются не только для регистрации мембранного потенциала, но и для визуализации t-тубул, что позволяет использовать их для определения средней длины саркомера. В этом исследовании были применены флуорофоры di-4-ANEPPS (возбуждение – 450/510 нм, эмиссия – >570 нм) и di-4-ANBDQPQ (возбуждение – 650 нм, эмиссия – 720 нм).

Ион-чувствительные флуоресцентные красители связываются с ионами внутри клетки и используются для измерения их концентрации. Так как ионы Ca^{2+} играют важную роль в регуляции электромеханического сопряжения в сердечной клетке, особый интерес представляют Ca^{2+} -чувствительные красители. В данном исследовании были использованы Ca^{2+} -чувствительные флуорофоры fluo-8 (возбуждение – 490 нм, эмиссия – 520 нм) и rhod-2 (возбуждение – 552 нм, эмиссия – 581 нм).

Работа выполнялась на одиночных изолированных кардиомиоцитах, полученных методом ретроградной (по Лангендорфу) перфузии изолированного

сердца мелких грызунов раствором с добавлением коллагеназы, расщепляющей внеклеточный каркас. Окраска клеток осуществлялась по стандартным протоколам, представленным в литературе.

Регистрация флуоресценции осуществлялась с помощью конфокального микроскопа Carl Zeiss серии LSM-710, имеющего несколько лазерных источников: Ar-лазер (458, 488, 514 нм; 25 мВт), DPSS-лазер (561 нм; 20 мВт), HeNe-лазер (633 нм; 5 мВт), которые позволяют работать с мультиканальной флуоресценцией. В ходе эксперимента с временным дискретом 1-3 мс, достаточным для точной регистрации процессов, происходящих в клетках, выполнялось сканирование изображений флуоресцентно-окрашенных клеток с последующим анализом динамики флуоресценции.

Совместное применение Ca^{2+} - и потенциал-чувствительных флуоресцентных красителей позволило одновременно визуализировать t-тубулы клетки и регистрировать изменения внутриклеточного Ca^{2+} и средней длины саркомеров клетки миокарда. Также в работе было проведено сравнение работы алгоритма определения средней длины саркомера кардиомиоцита без применения и с применением флуоресцентных красителей.

Работа поддержана Постановлением Правительства РФ №211 от 16.03.2013, темой № АААА-А18-118020590031-8 и РНФ № 18-74-10059 (анализ динамики внутриклеточного Ca^{2+}).

СТОХАСТИЧЕСКИЕ ОСЦИЛЛЯЦИИ В ДВУМЕРНОМ ДИСКРЕТНОМ ОТОБРАЖЕНИИ НЕЙРОНА

Насырова В.М.*, Ряшко Л.Б.

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, Россия

*E-mail: nasyrova.ven@yandex.ru

STOCHASTIC OSCILLATIONS IN A TWO-DIMENSIONAL DISCRETE MAP OF A NEURON

Nasyrova V.M.*, Ryashko L.B.

Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

Annotation. We study the two-dimensional Rulkov model with discontinuous function under the influence of random disturbances. We considered a zone where periodic oscillations are observed. The impact of random disturbances on the system leads to a change in the regime of neural activity. Using direct numerical simulation, the stochastic sensitivity function technique and the method of confidence domains, we describe this phenomenon.

В последнее время интенсивно развивается изучение динамических принципов и механизмов, которые происходят в нейронных сетях. Исследования